GeneTools

入门指南

基因有限公司售后服务部编译

编者言

本手册系原版英文说明书编译而来，希望它能为您操作该软件时带来帮助。由于译者的水平限制，手册中可能存在错误和遗漏，如与英文说明书发生冲突，请英文原版说明书为准。本手册只作为您操作的参考依据，不能作为其他评定标准。

基因公司售后部应用工程师：张传峰

2004-3-23

简　介

本手册是 GeneTools 快速入门指南,向您简单的介绍如何使用 GeneTools 来完成您的实验结果分析。虽然只是对 GeneTools 进行简单的描述，但是您可以发现，本手册所描述的功能和步骤基本上能覆盖您实验分析中所有的需要，如果您想详细了解 GeneTools 的各个功能，请您参阅随仪器附送的 GeneTools_Reference_Manual。

GeneTools 提供了很多配置参数选项，您可以通过修改这些参数，使软件来按照您的需要来进行工作。但是，您并不需要经常修改这些参数，因为默认的参数设置在大多数情况下都是适合的，您修改的参数可以保存为默认值，在下一次打开图像时会生效。

GeneTools 也提供了一系列的工具，可以然您更好的手动控制处理过程和编辑分析结果。但是您并不需要经常使用这些工具，因为 GeneTools 提供的自动分析工具是如此强大和灵敏，它们会很好的处理绝大多数的图片，极少数特殊图像可能需要您进行手动编辑、分析。

在使用软件的任何时候，如果您对某一特征感兴趣，可以直接查看实时帮助，本软件提供功能强大的帮助软件，详细介绍了如何操作 GeneTools。

分析技术

GeneTools 支持凝胶分析、克隆计数、手动条带定量和斑点分析。每一种方法都在下列章节中独立介绍。

- 凝胶图像分析——第二章
- 克隆计数分析——第三章
- 手动条带定量——第四章
- 斑点分析——第五章

文件格式

GeneTools 以一种安全格式保存文件数据,SynGene Gel document 或者 .sgd 格式文件。这些文件格式和图像捕捉软件 GeneSnap 完全兼容。

这种文件格式确保您的数据不会被随意破坏，同时您还可以对数据进行追踪和复制。

您也可以打开其他非安全格式文件（tiff、bmp 等）进行分析。当您这样操作时，GeneTools 会自动拷贝一份原图像并以安全格式保存。您对原图像所做的任何改变都不会影响已保存的安全格式文件。

凝胶分析

本章主要介绍如何使用 GeneTools 进行凝胶分析，欲了解详细的功能，您可以参阅实时帮助。

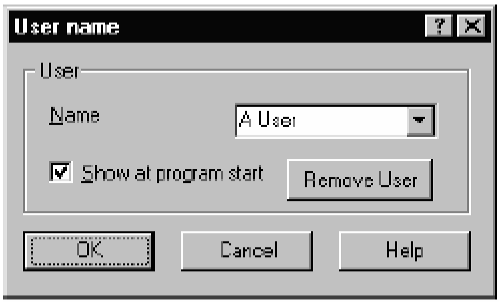
本章开始介绍了如可运行 GeneTools，如何进行参数设置制，以方便您以后的章节使中。

打开 GeneTools

本章节假设 GeneTools 已经安装到您的计算机上，并且设置为开机自动运行。如果您刚刚安装好 GeneTools，就刚好是这种情况，所有的参数均处于默认状态。当然如果您的软件是以前安装的，其中有些参数已经改变，在继续本章节前您可以把他们全部恢复到默认状态。

运行 GeneTools

1 点击开始按钮、选择程序菜单，进入 Syngene 子菜单，选择 GeneTools，双击运行。根据程序的设置，用户名称对话框可能会出现在界面，如下图：

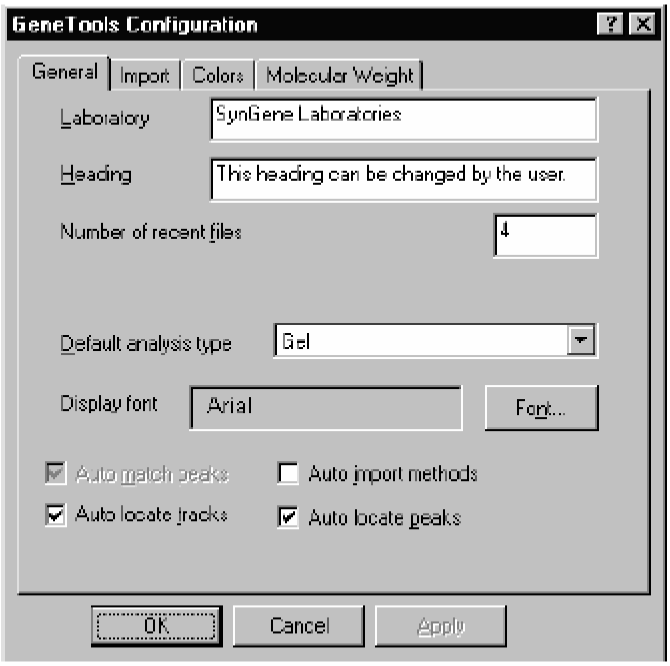


2 如果您先前已经输入用户名，您就可以从下拉框中选择您的用户名，否则输入您的用户名。

用户名将被打印在报告中，保存在文件的历史记录中，以便于您追踪是谁创建和修改了该文件。

如果您不想显示用户名提示对话框，您可以不选择“Show at program”，这样以来，最后注册使用用户名就会被默认为当前用户，自动加载。

3 从 Extras 菜单中选择 Configuration，弹出 GeneTools configuration （软件属性设置）对话框：



4 确保选择 Auto match peaks，Auto locate tracks 和 Auto locate peaks

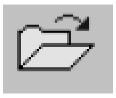
5 不要选择 Auto import methods。

打开一个安全格式文件

注意：如果你是从 GeneSnap 中直接打开 GeneTools,样本属性对话框会立即弹出，你可以直接跳到第四步进行操作。

打开一个已存在的安全格式文家

1 从常用工具栏中选择“ Open ”按钮：

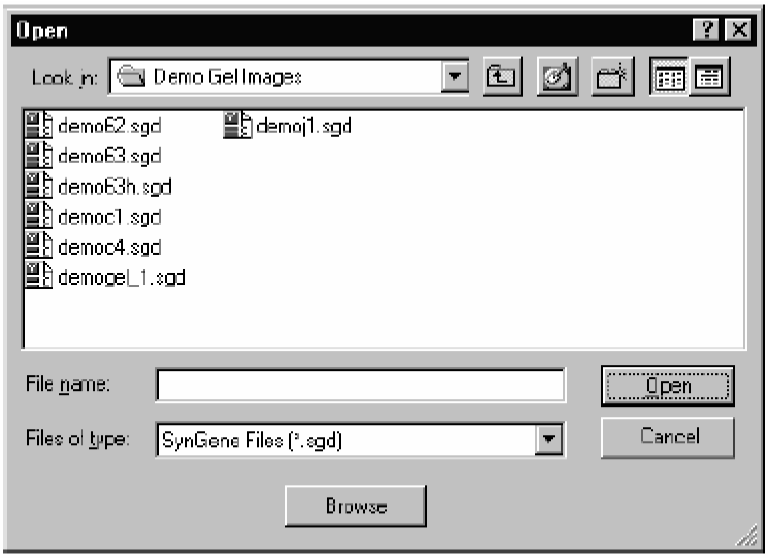


或者

从“ File ”菜单选择“ Open ”来打开文件

注意：从常用工具栏选择点击相应的按钮，是比价简洁明快的方式。本手册介绍的工具，如果在常用工具栏里出现，均可以在常用工具栏里直接双击运行。常用工具栏的命令基本上可以满足您大部分分析需要。

标准的打开文件对话框



注意：如果您想分析一个并非有 GeneSnap 捕捉的图像，对于其他格式的图片（tif、bmp)，可以通过“ File ”菜单选择“ NEW（import）”来打开。GeneTools 将创建一个安全格式文件，弹出标准的 Windows 打开对话框，您可以选择您要打开的图片类型，更多信息请参阅实时帮助。

---

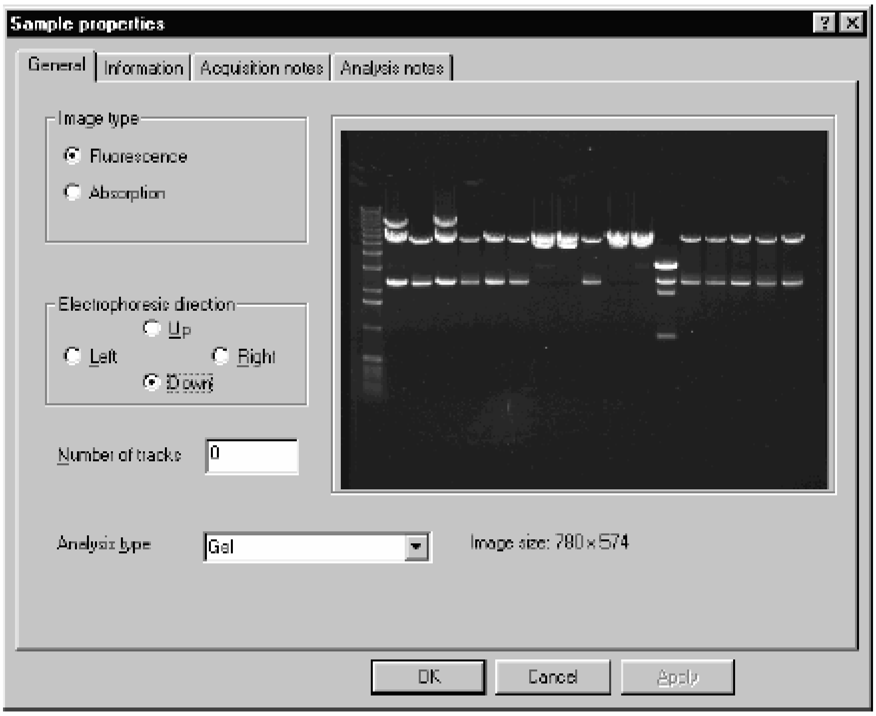
2 使用该对话框选择所需要的安全格式文件

3 点击“ Open ”

注意：如果您打开一个已经分析过的图像，图象会立即弹出在图像窗口。

如果您已经设置“ Auto import methods ”,并且选择了一个图像输入,“ import method ”对话框会立即弹出。更多信息，请参阅实时帮助。

样本属性对话框会立即弹出



4 选择Analysis Type为Gel(Genetools默认的分析类型是Gel,您也可以通过Extra — configuration—Analysis type 改变默认的设置)。

5 选择电泳的方向，默认方向是 Down。

您不必要修改其它的设置，尤其是：

- GeneTools 自动检测图像类型
- 您应该设置“Number of tracks”为 0，这样 GeneTools 会自动进行泳道定义。

6 点击“OK”键

短暂的停顿以后，GeneTools 会自动进行泳道定位和条带定位。
结果会显示在凝胶窗口。
关于该命令和相关主题的介绍请参阅在线帮助的相关章节 Reference → Gel analysis → How to → Create and work with secure sample files :

- 打开一个 secure sample file
- 创建一个新的 secure sample file
- 使用查询功能
- 获取图像创建 secure sample file

- 设置综合参数

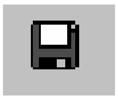
secure sample file 保存

一旦创建了 secure sample file,如果您想再次调用该文件，您必须先保存该图像为 .sgd 格式。分析后的图像，分析数据将随图像一起保存。

另存为其他文件名：

1. “File”菜单，选择“Save as”弹出另存对话框。
2. 选择或创建新的保存文件夹
3. 输入文件名
4. 保存文件

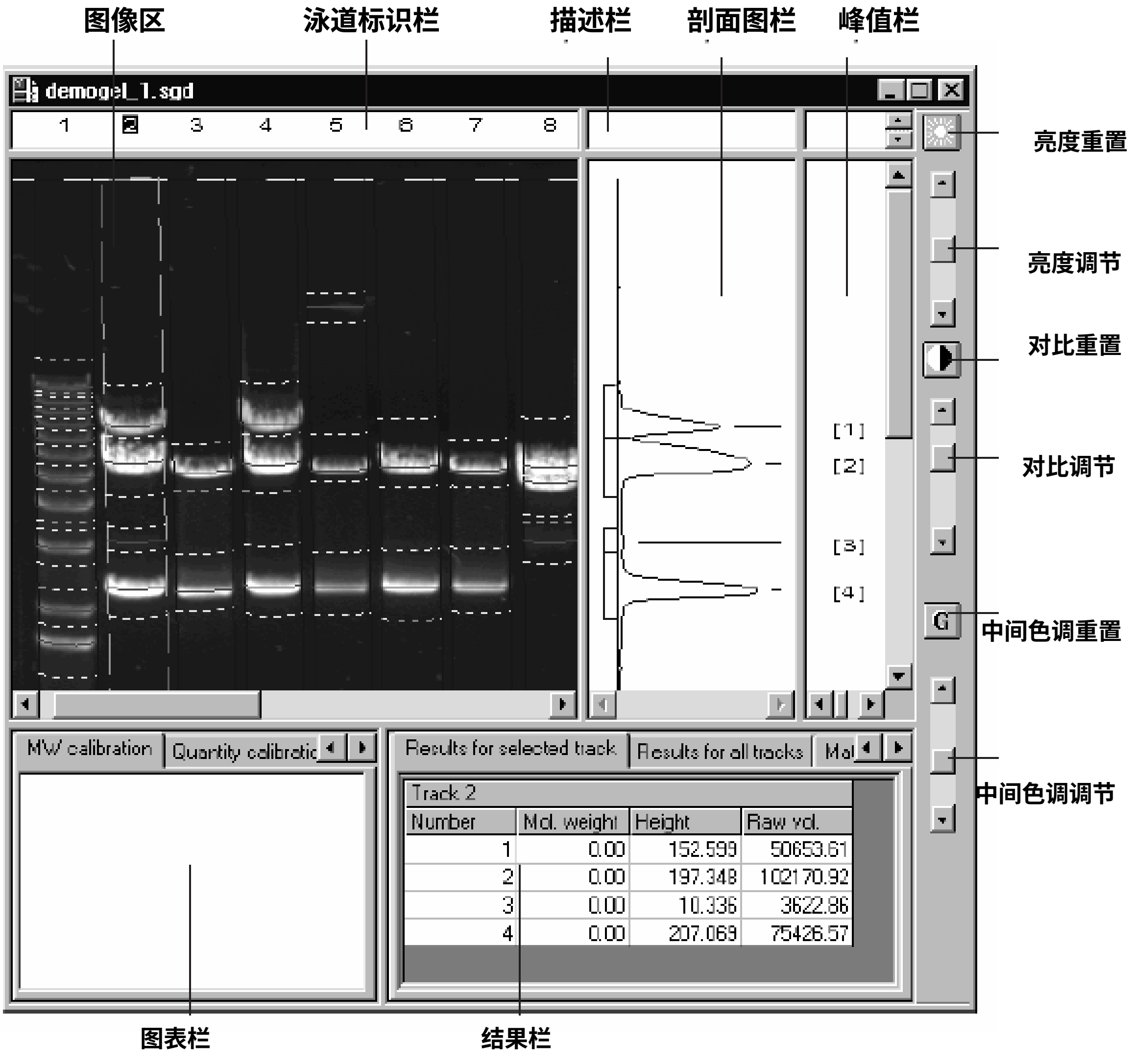
使用相同的文件名保存先前的图像可以直接使用保存快捷图标：



“File”菜单选择“Save”命令，如果图像以前没有被保存过，将弹出另存为对话框，提示您输入文件名：参考上文。

使用图像窗口

您打开的图像将显示在图像窗口：



下面简单介绍图像窗口的各个部位，详细信息您可以参阅在线帮助。

图像区

图像区显示图片以及条带和峰所在的位置，以蓝色方框显示用到，黄色表示峰值，为更好的吻合数据，条带的边缘以曲线表示。
如果您在不同的泳道之间使用条带匹配，在匹配的条带之间会以红线连接表示。
您可以在“ View ”菜单里设置需要显示的项目，如泳道标识、峰值标识、条带边缘、匹配线、背景线等。在“ Extras ”菜单 “ Configuration ”里可以对各个项目的颜色进行更改。
鼠标点击所需的条带即可选中，同样方法选中泳道。右键单击条带，弹出条带快捷菜单，可以对条带进行相应的处理。

泳道标识栏

该栏显示泳道的标识以及该泳道的目前所处的状态：
- 非激活状态（泳道标识以灰色显示）
- 分子量条带标准 （ MWS ）
- 条带匹配标准 （MS）
- 当前条带匹配标准 （MS*）

您可以在泳道标识栏单击选中所需泳道，也可以在图像区使用右键单击所需的泳道，弹出泳道对话框，对泳道进行相应的编辑。

描述栏

描述栏显示当前泳道的一些相关信息，您可以在“ Tracks ”菜单使用使用“ Description ”来编辑当前泳道的描述。

剖面图栏

剖面图栏显示当先选中泳道的峰值剖面图。
如果您选择其中一个泳道作为条带匹配标准，其剖面图会一直显示在该栏，以于其他的泳道进行对比分析。
在“ Extras ”菜单 “ Configuration ”里可以对各个项目的颜色进行更改。
您也可以在剖面图栏对各个条带进行编辑，通过鼠标右键。

峰值栏

该栏显示剖面图栏条带的编号和其他信息。显示信息与您在图表栏的选择项目有关。
- 如果选择分子量标准曲线，就是显示分子量
- 如果选择质量校正标准曲线，就显示条带的质量
- 如果选择系统树图，就显示条带的位置

图表栏

图标栏显示：
- 所选泳道的分子量校正曲线
- 所选泳道的质量校正曲线
- 匹配泳道之间的系统关系树图

结果栏

结果栏显示：
- 所选泳道的结果
- 所有泳道的结果
- 匹配比较（显示匹配条带的结果）
- 匹配表格（显示匹配的条带）
- 匹配系数（不同泳道之间的匹配系数）

在结果栏上使用右键，弹出的对话框里选择您需要显示的项目。

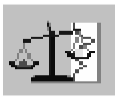
计算分子量

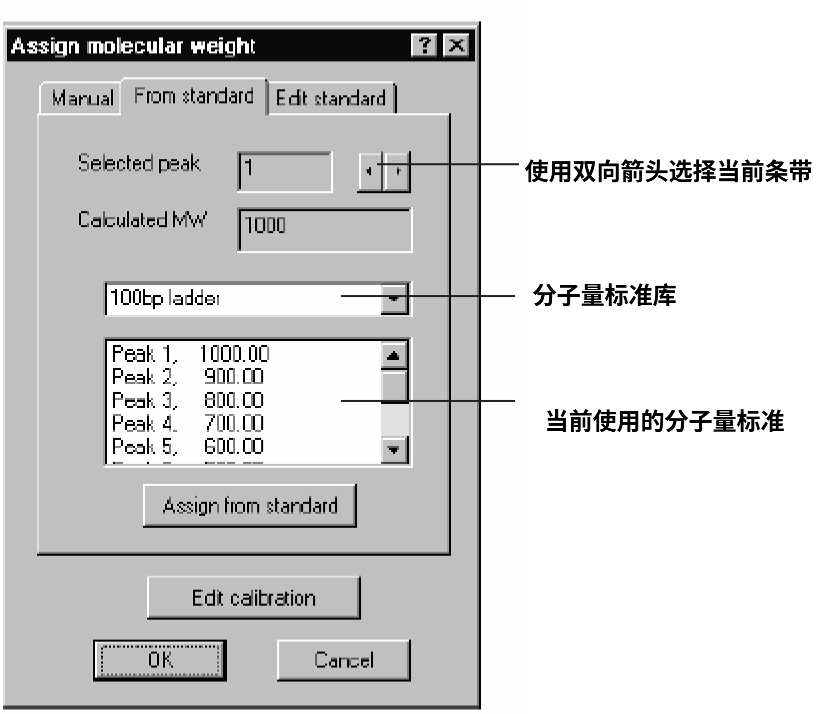
要计算泳道中不同条带的分子量,就必须先对其中已知分子量的一个或者多个泳道进行分子量分配。

GeneTools 软件自己内置了一个分子量标准库，您可以对分子量标准库进行编辑。如果其中没有符合您要的分子量标准，您也可以根据自己的需求，创建适合自己的分子量标准。

确定分子量标准条带，分配分子量：

1. 选择分子量标准泳道（Marker 条带）
2. 选择对应分子量标准的第一条带
3. “Track”菜单选择“MW standard”定义当前选中泳道为分子量标准泳道，在弹出的对话框里，选择相应命令，分配分子量：

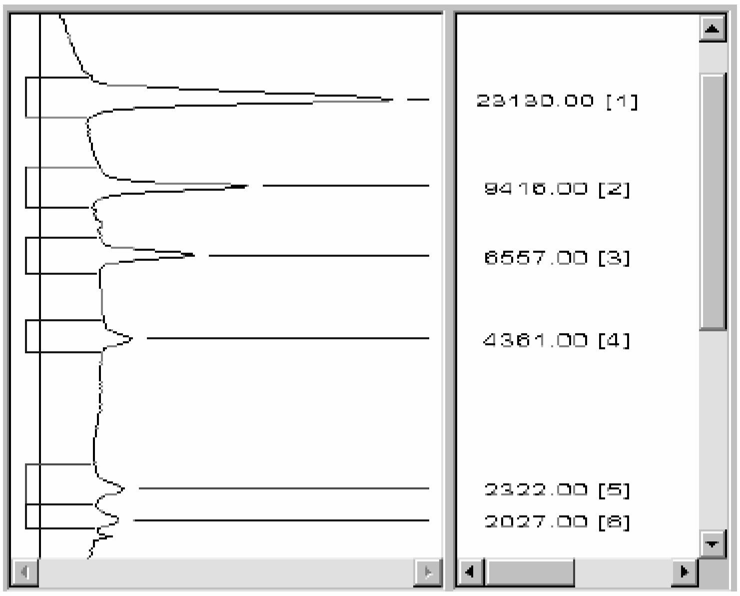




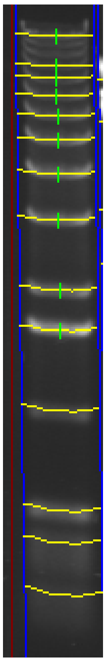
4. 在分子量标准库里选择所需的分子量标准
5. 使用双向箭头选择于分子量标注的第一峰
6. 点击“Assign from standard”分配分子量
7. 点击“OK”

在“View”菜单里选择“Molecular weight”查看分子量

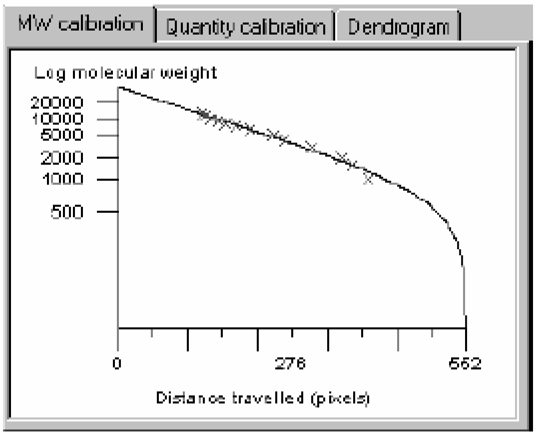
- **计算出的分子量显示在峰值栏里**



- **分子量标准泳道中被分配分子量的条带，在其峰标识符号上有一竖直绿色的短线**



- **在图表栏里，您可以查看 MW calibration**



纵坐标表示分子量，根据您的选择其刻度可以是线性也可以是对数。横坐标表示条带泳动的距离。

已经分配分子量条带，您可以在结果栏里查看。我们手动分配的分子量为红色，根据分子量标准计算出来的分子量为黑色。

在右边的峰值栏里会显示您所选中泳道的各个条带的分子量

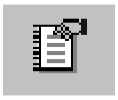
关于该主题的更多信息及相关主题，请您参阅在线帮助 Reference → Gel analysis → How to → create molecular weight calibration

结果处理

图像分析结束后，您可以在结果栏查看相应的信息。在结果栏里使用右键，“Maximize”命令最大化结果栏，方便查看。通过鼠标右键您也可以选择您需要显示的信息。

结果打印

打印当前结果：

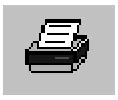


1. “File”菜单里选择“Report setup”弹出“Report setup”对话框

Note 如果当前打印机所使用的打印纸尺寸小于 150mm，打印的报告上会包含一些简短的图像信息。打印的具体选择和参数您可以根据需要进行修改。

---

2. 选择您需要的信息
3. 点击“OK”关闭对话框
4. 从“File”菜单里选择“Print”或者使用快捷图标打印结果
5. 选择打印参数，进行打印。



Note　更多信息请参阅在线帮助 Reference → Gel analysis → How to → Printing reports – Gel Results topic

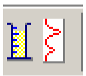
您也可以把结果直接输入到 Excel 或其他电子表格中，具体操作查看在线帮助

质量确定

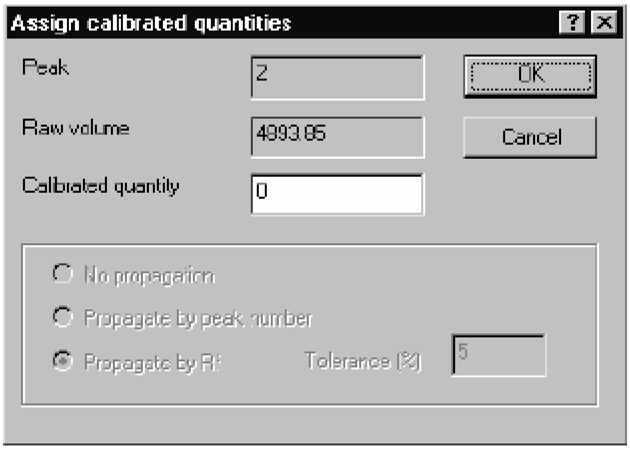
要进行定量分析，您首先要知道至少一个条带的质量，这样才能对其他条带进行质量分配。

分配条带质量

1. 选择质量已知的条带



2. 从 “ Peak ” 菜单选择 “ Assign quantity ” 或直接点击快捷图标，弹出下面对话框



(如果所有的泳道都使用同一个校正标准，对话框底部的命令选项全部为灰色，处于非激活状态，这是默认设置。您可以在 “ Edit ” 菜单里选择 Quantity calibration 命令更改为每个泳道使用自己的质量校正标准。)

3. 在 “ Calibration quantity ” 填充框里输入已知的条带质量。
4. 点击 “ OK ” 键 确认

被分配质量的条带标识上有一短线，表示该条带为质量校正标准。

图表栏会显示该点的质量校正曲线，在峰值栏也会显示该点以及由该点计算出来的其他点的质量。

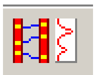
更多信息请参阅在线帮助 Reference → Gel analysis → How to → create quantity calibration

不同泳道间条带匹配

Note　只有在您购买 Genetools Match 软件后，您才可以使用该选项

GeneTools 可以在其他泳道上搜索和标准泳到相匹配的条带

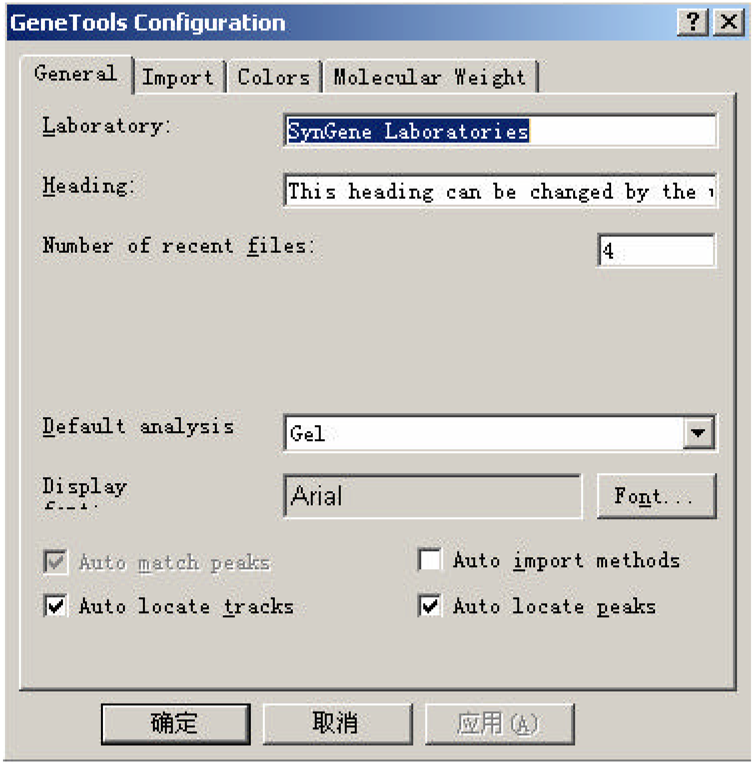
定义一个泳道为当前匹配标准：
1. 在图像区单击选择标准泳道



2. 从“Track”菜单选择“Matching standard”

泳道标识下显示“MS*”—MS 表示匹配标准泳道，* 表示为当前激活泳道（以前定义的匹配标准泳道以 MS 加以显示，不在处于激活状态)。

在“Extras”菜单选择“Configuration”弹出软件配置对话框。在这里您可以设置



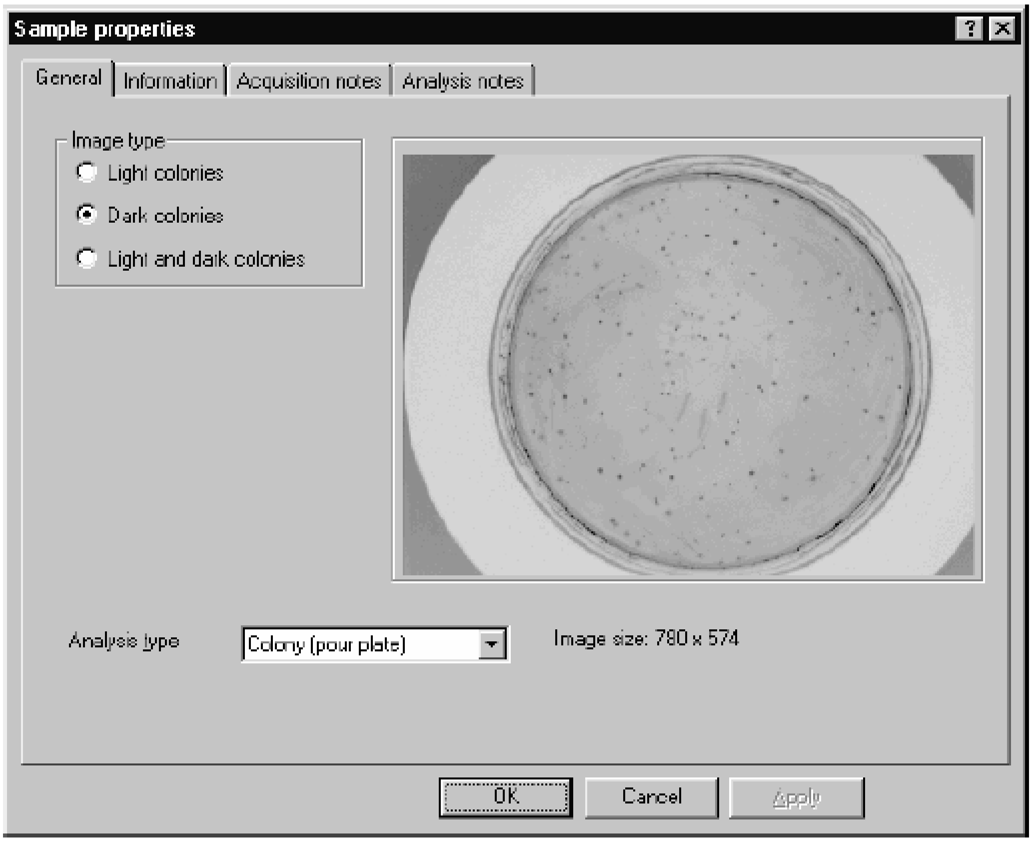
自动定位泳道、自动定位条带、自动条带匹配等参数。
更多信息请参阅在线帮助 Reference → Gel analysis → How to → match peaks 哦那 different tracks

关于琼脂糖凝胶的分析的入门介绍就这么多，按照上面所作的介绍，您可以完成凝胶的基本分析。
还有很多关于 GeneTools 软件的性能没有介绍，如果您需要进一步的了解，您可以参考在线帮助或者随仪器携带的说明书。

克隆计数

本章主要介绍如何进行克隆计数，详细的信息您可以参阅在线帮助。

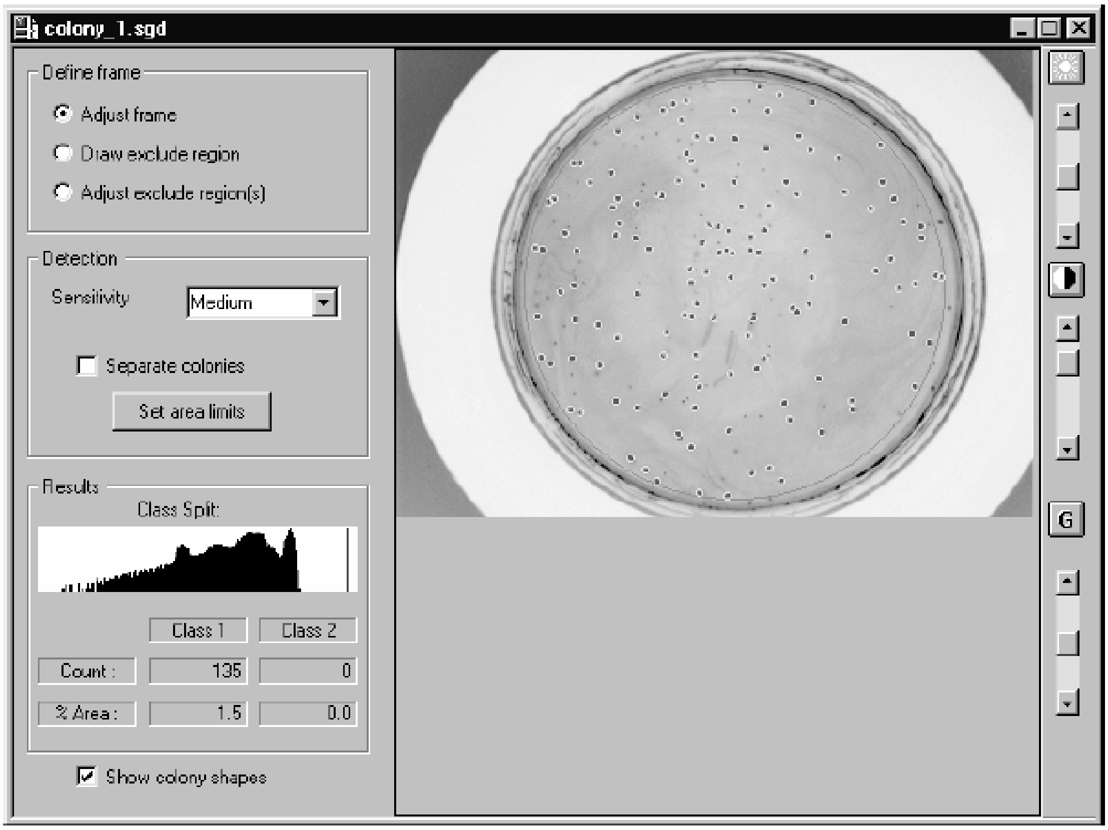
打开一个克隆图像



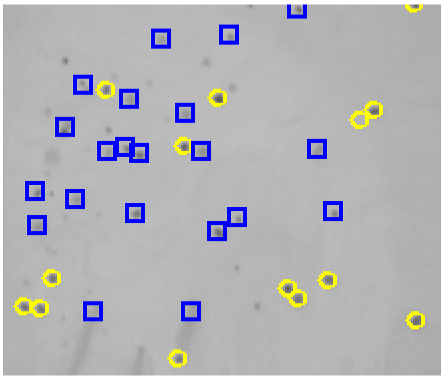
在分析类型（analysis type）选项框里，选择 Colony (pour plate)，GeneTools 会自动选择图片类型（image type），如有必要您可以手动修改，点击“OK”，图像分析结果会自动图像窗口。

图像处理窗口

当您打开一个克隆平板图像后，图像会自动显示在图像分析窗口。



结果栏会显示图像上克隆的数目，这个过程是软件自动完成的，您不需要做任何事，但是您也可以手动设置克隆计数的区域、检 测克隆的参数。您也可以根据克隆图像的灰度值把克隆分成两个等级，灰度值较高的克隆以黄色的圆圈标识，灰度值较低的克隆以蓝色的方框标识。

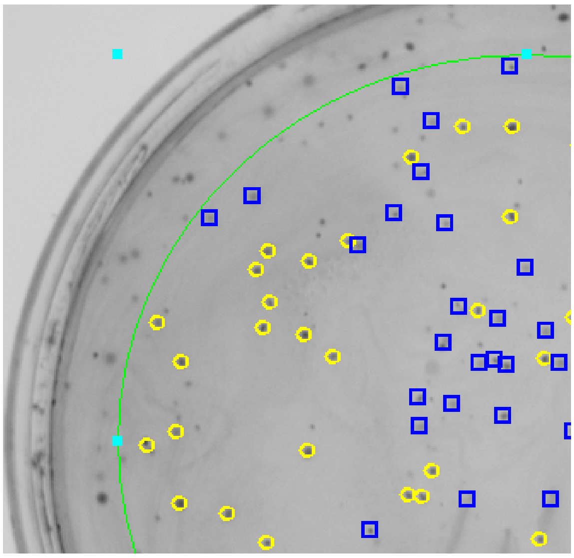


设置克隆计数的区域

在克隆图像窗口显示一个克隆计数的区域，GeneTools 在自动计数时只计算该区域内的克隆，您也可以调整该椭圆形框架，更改克隆计数区域。

调整克隆计数区域：

1. 在左上角“Define frame”框选择“Adjust frame”命令。
2. 点击区域选择框，选择框边缘出现蓝色手动调节符，
3. 按住鼠标右键，拖动鼠标进行调节。



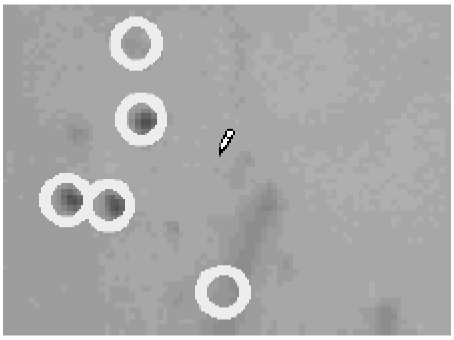
4. 拖动鼠标到合适的位置，松开左键即可。

定义一个非接纳区域

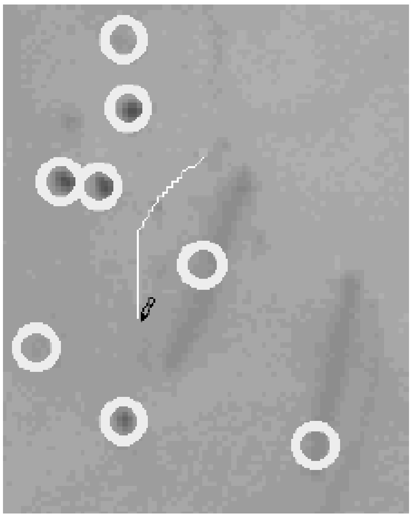
有时候图像区域会出现一些克隆假象，您可以定义一个非接纳区域，把这些假克隆排斥在计算之外。GeneTools 在自动计数时，不会搜索非接纳框区域的克隆。

您可以按下面步骤定义一个非接纳框：

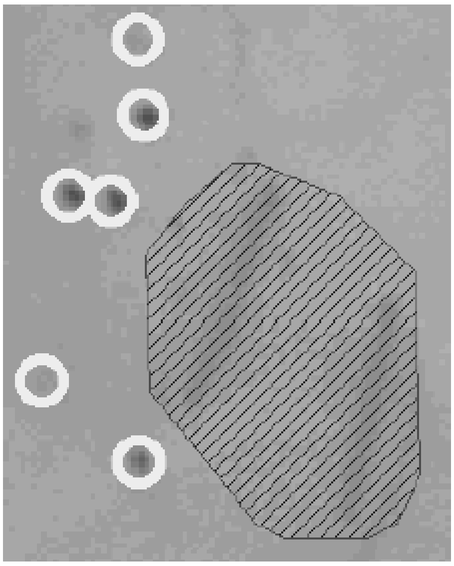
1. 选择“Dedine”面板上的“Define exclude region”
2. 移动鼠标到图形区，鼠标指针会变成铅笔样



3. 按住鼠标左键，画出您不想进行克隆计算的区域



4. 选择完毕，松开鼠标，非接纳区会自动封闭，以阴影显示。



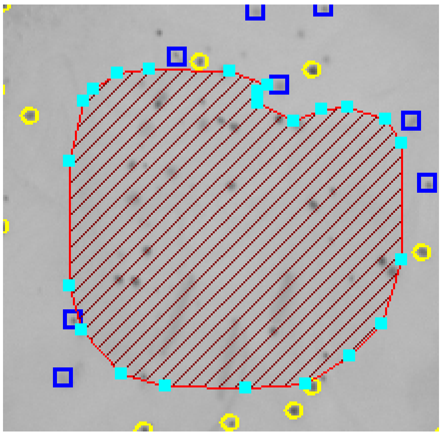
先前在该区域计算的克隆会自动忽略。

5. 同样的方法您可以定义多个区域。

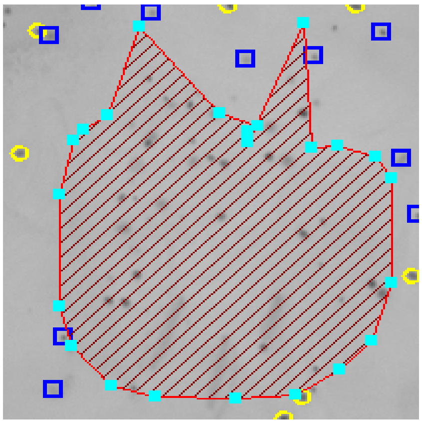
改变非接纳区的形状

改变以存在非接纳区的形状

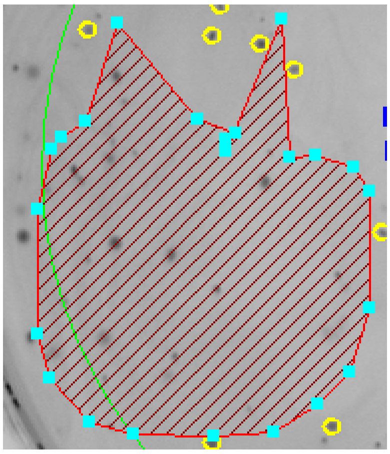
1. 选择“Dedine”面板上的“Adjust excludr region (s)”
2. 选中非接纳区，使用鼠标调整边缘的节点



3. 鼠标调节边缘节点，改变区域的形状

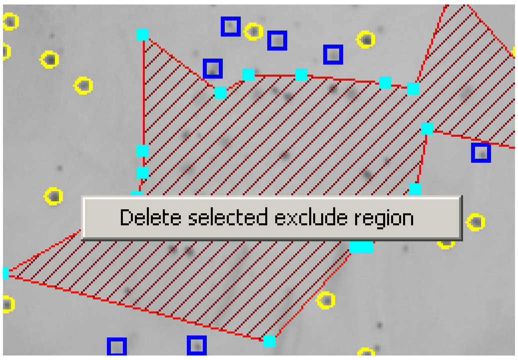


4. 鼠标选中区域，按住左键可以拖动区域到新位置



删除非接纳区

1. 在“ Define frame ”面板上选中“ Adjust exclude regions ”
2. 选中您想删除的非接纳区
3. 单击鼠标右键，在弹出的对话框里选中删除命令



设置克隆检测参数

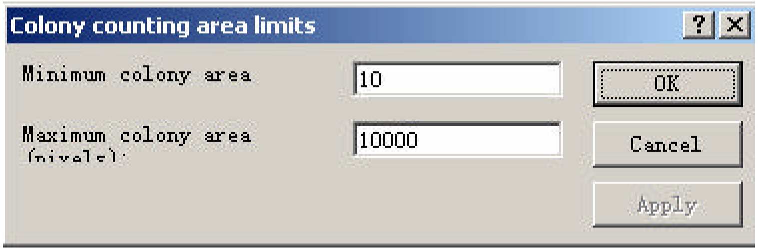
GeneTools 会自动对检测到的克隆加以标识：圆圈或方框，但是这并不是克隆的实际大小，然而您也可以设置显示检测克隆实际大小。

查看克隆的尺寸和形状：

在图像窗口的左下角选中“ Show colony shapes ”选项。图像中被检测到的克隆以红色加以突出显示，红色是默认颜色，您可以通过“ Extras ”菜单下“ configuration ”命令更改颜色。

设置克隆检测的参数：

1. 在“ Detection ”面板选择“ Sensitivity ”，确定分辨背景和克隆的灵敏度。一般地讲对比度较低的图像选择较高大灵敏度。
2. 选中“ Separate colonies ”软件会自动运用克隆分散算法，分散相互连接的克隆。
3. 点击“ Set area limits ” 弹出“ Colony counting area limits ”对话框

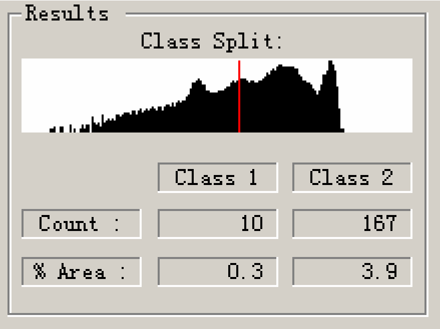


Note： 您可以不用关闭对话框，使用“Apply”键来查看您修改的效果

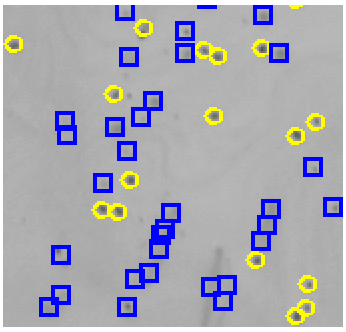
4. 在“Minimum colony area”，设置您希望检测到的最小克隆
5. 在“Maximum colony area”，设置您希望检测到的最大克隆
6. 按“OK”按钮，确认您的设置

查看克隆计数结果

当您对图形区域进行编辑、更改计数区域范围、克隆检测参数等操作时，结果栏会自动更新计数结果。



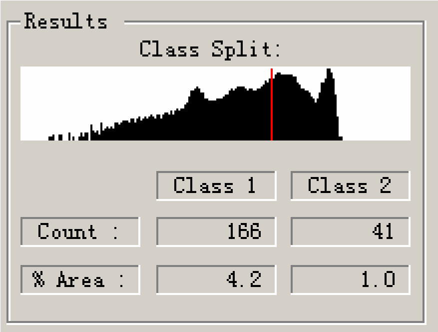
根据克隆的灰度值巴克隆分成两个等级。在样本属性框选择“Light colonies”或者“Dark colonies”，您可以在“Result”面板通过调节“Histogram”来设置两个等级之间的分界值。如果您选择“Light and dark colonies”，克隆将被分为两级，一级是“light colonies”，克隆的灰度值较背景低，另一级是“dark colonies”，克隆的灰度值较背景高。此时您不能通过调节“Histogram”来设置两个等级之间的分解值，它们的分界值是由背景值决定的，图像上，不同等级的克隆以两种不同的形式加以区分。



定义克隆等级界限

定义“light”或者“dark”克隆之间的界限：

1. 使用鼠标调节垂直红线的位置到合适的位置



2. 松开鼠标左键，图像框的克隆会根据等级界限自动重新划分。

结果处理

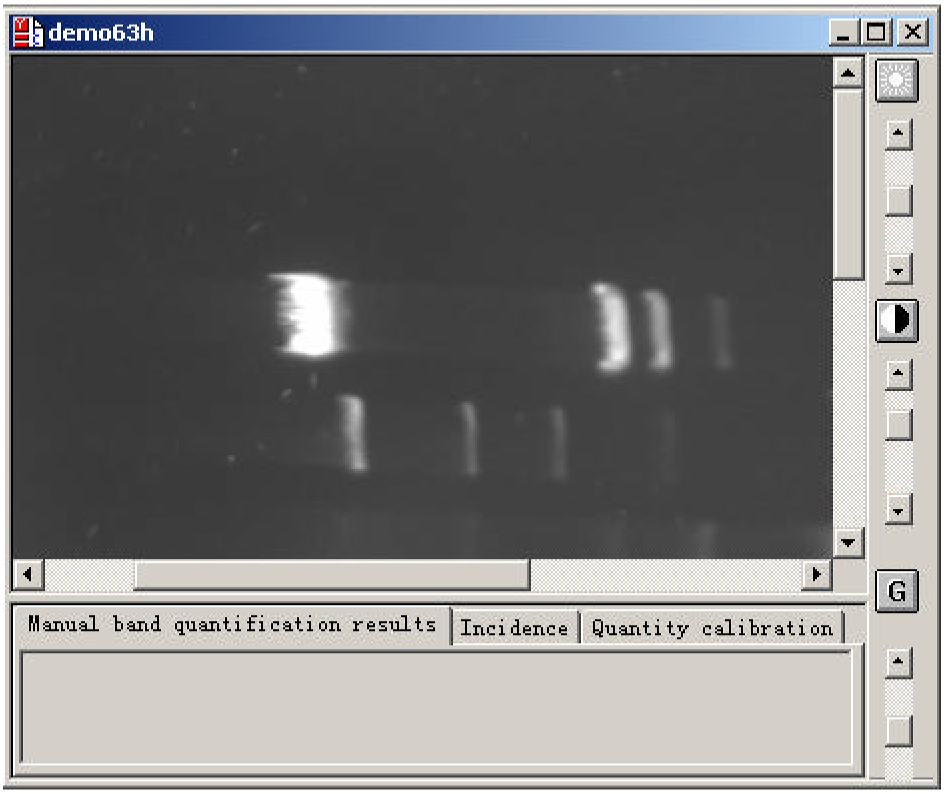
您可以根据自己的需要，选择合适的打印项目。其报告处理方法和凝胶分析一样，具体步骤您可以参考凝胶成像的报告处理。

手动条带定量

本章节主要介绍如何使用 GeneTools 进行不规则条带的手动分析。详细的操作步骤，您可以参考在线帮助，或者随仪器附带的说明书。

1. **打开样本图像**

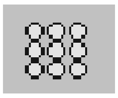
2. **在“Analysis type”框里选择“Manual Band Quantification”**
3. **按“OK”键，关闭样本属性框，进入图像分析窗口**



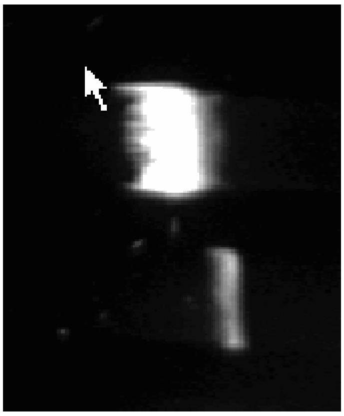
打开图像时软件不是自动对图像进行分析，需要您手动对图像进行分析处理。更多的信息您可以在线帮助和软件说明书。

样本定位

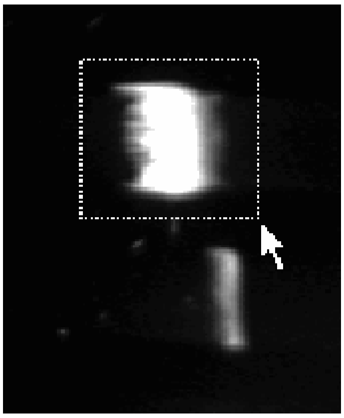
GeneTools软件在手动分析之前，您必须先自动分析的范围，我们称之为样本框。
分配样本框：



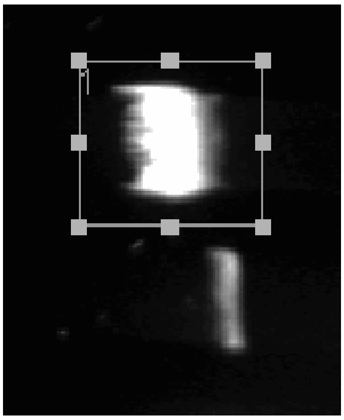
1. 如果准备分析的样本没有选定，“ Spots ” 菜单选择 “ Position ”，也可以直接使用快捷图表来分配样本框
2. 移动鼠标到您需要的位置



3. 按住鼠标，画样本框

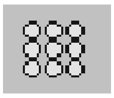


4. 松开鼠标，就可以看到样本框，使用鼠标可以调节样本的大小和位置。同样的方法您可以分配其他的样本框。



添加通规格的样本框

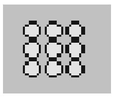
在图像上添加同样大小的样本框：



1. 从“ Spots ”菜单选择“ Position any spot ”以更改样本框
2. 选择您将要拷贝的样本框
3. 鼠标移动到您需要分配样本框的中央，双击鼠标，即会弹出和您选择的样本框同样尺寸的样本框。

调整样本框的位置

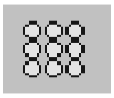
调整图像上样本选择框的位置



1. 从“ Spots ”菜单选择“ Position any spot ”以调整样本框的位置
2. 点击样本框的中间，以选中该样本框
3. 按住鼠标，移动到合适的位置

删除样本框

删除图像上以分配的样本框



1. 从“ Spots ”菜单选择“ Position any spot ”以调整样本框
2. 鼠标选择
3. 单击鼠标右键，在弹出的菜单中选择“ Delete ”,或者从“ Spots ”菜单选择“ Delete ”也可以选择“ Delete all ”删除所有样本框

显示或隐藏样本框标识

显示或者隐藏样本框标识，在“ View ”菜单选择/取消“ Spot number ”即可。

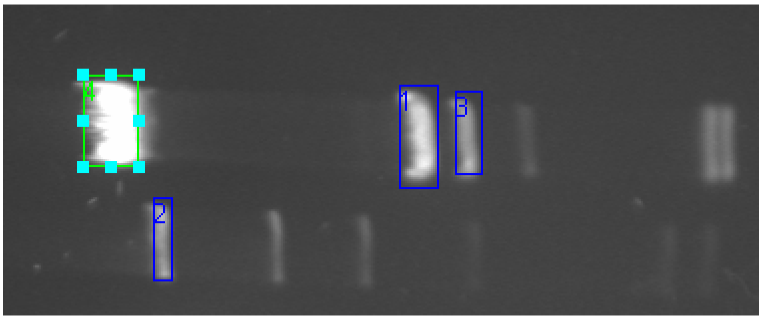
保存图像

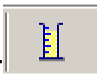
保存图像的操作步骤和前面凝胶成像的介绍一样。

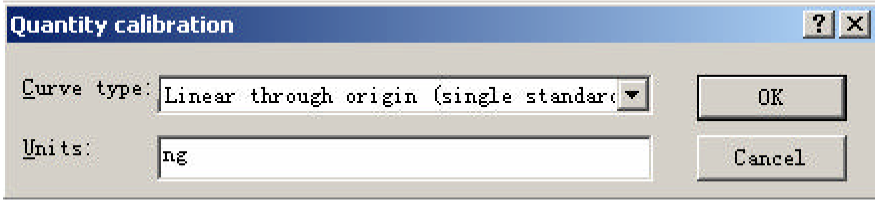
定量分析

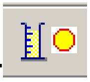
对已知的样本分配质量，生成标准曲线，根据标准曲线可以计算其他未知样本的质量。

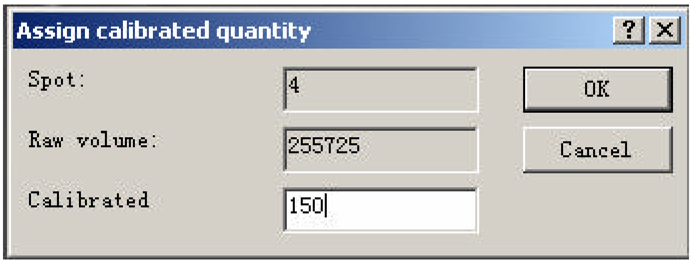
1. 选中已知质量的样本。



2. 点击  ，在弹出的对话框，选择曲线类型和质量单位。



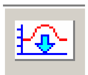
3. 点击  ，在弹出的对话框输入已知质量



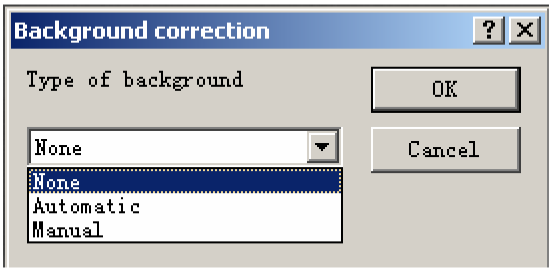
点击“ OK ”完成定量。
在左下角的“ Quantity calibration ”里可以查看定量曲线。

背景校正

从原始图片的分析中，扣除背景带来的影响。



1. “Spots”菜单选择“Background correction” 或者直接点击上面图表,弹出下面对话框：

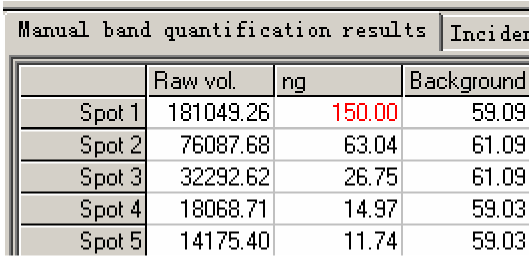


2. 选择背景校正方式None、Automatic or Manual。
3. 如果选择None or Automatic，点击“OK”关闭对话框，进行背景校正。
4. 如果选择“Manual”您需要手动确定用来作为背景的区域。

背景区域以Bkg标识，然后再点击“OK”按钮，完成背景校正。

查看结果

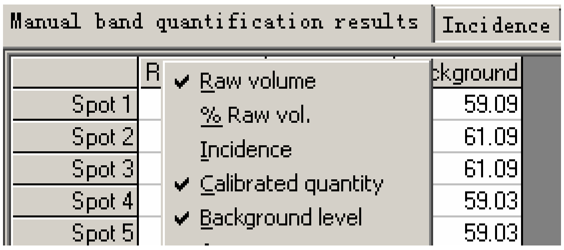
在“Manual band quantification results”区，查看手工定量分析的结果。



Manual band quantification results | Inciden

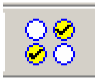
	Raw vol.	ng	Background
Spot 1	181049.26	150.00	59.09
Spot 2	76087.68	63.04	61.09
Spot 3	32292.62	26.75	61.09
Spot 4	18068.71	14.97	59.03
Spot 5	14175.40	11.74	59.03

在上面的面板上右键单击，弹出下面对话框，选择需要显示的项。

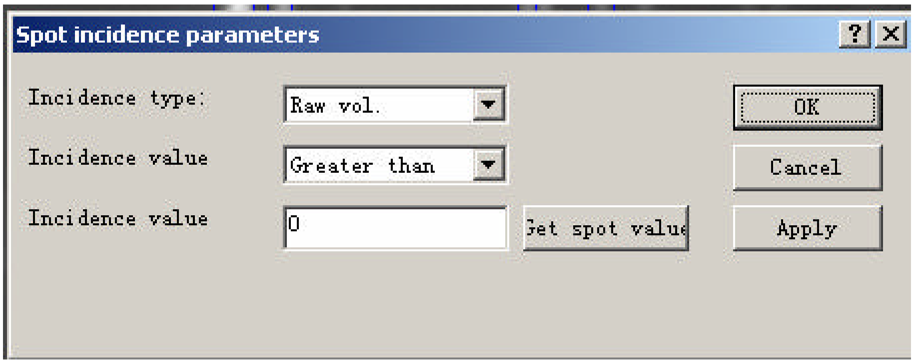


定义筛选条件

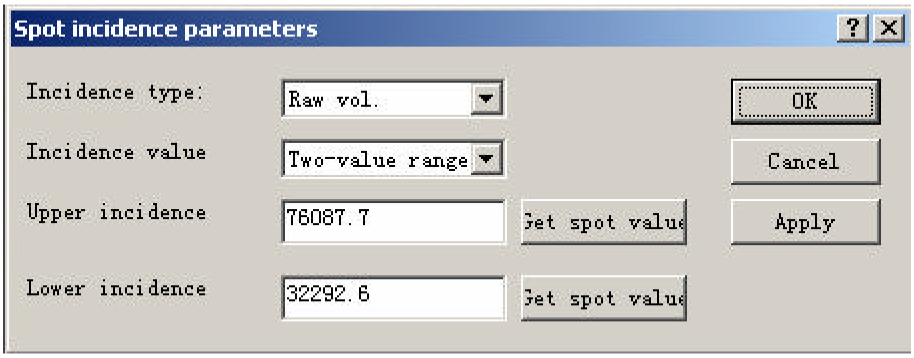
GeneTools 允许您为手动定量和斑点杂交分析定义一个条带或斑点筛选的条件



1. “Spots”菜单选择“Spot incidence parameters”显示该选项对话框



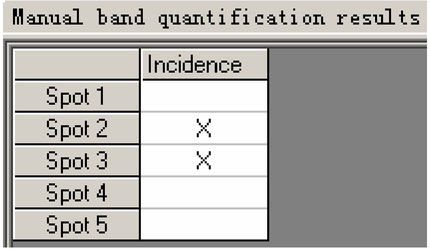
2. 选择您需要的参数Raw vol，%Total、raw vol 、Pixel area or Quantity。
3. 选择您需要比较符号Greater than、Less than or Two－value range。
4. 如果选择“Two value range”，将弹出下面对话框：



输入上下限的值，点击Apply可查看应用的结果，点击“OK”关闭窗口。

查看筛选结果

在左下角“Incidence”查看结果



Manual band quantification results

	Incidence
Spot 1	
Spot 2	X
Spot 3	X
Spot 4	
Spot 5	

打印报告

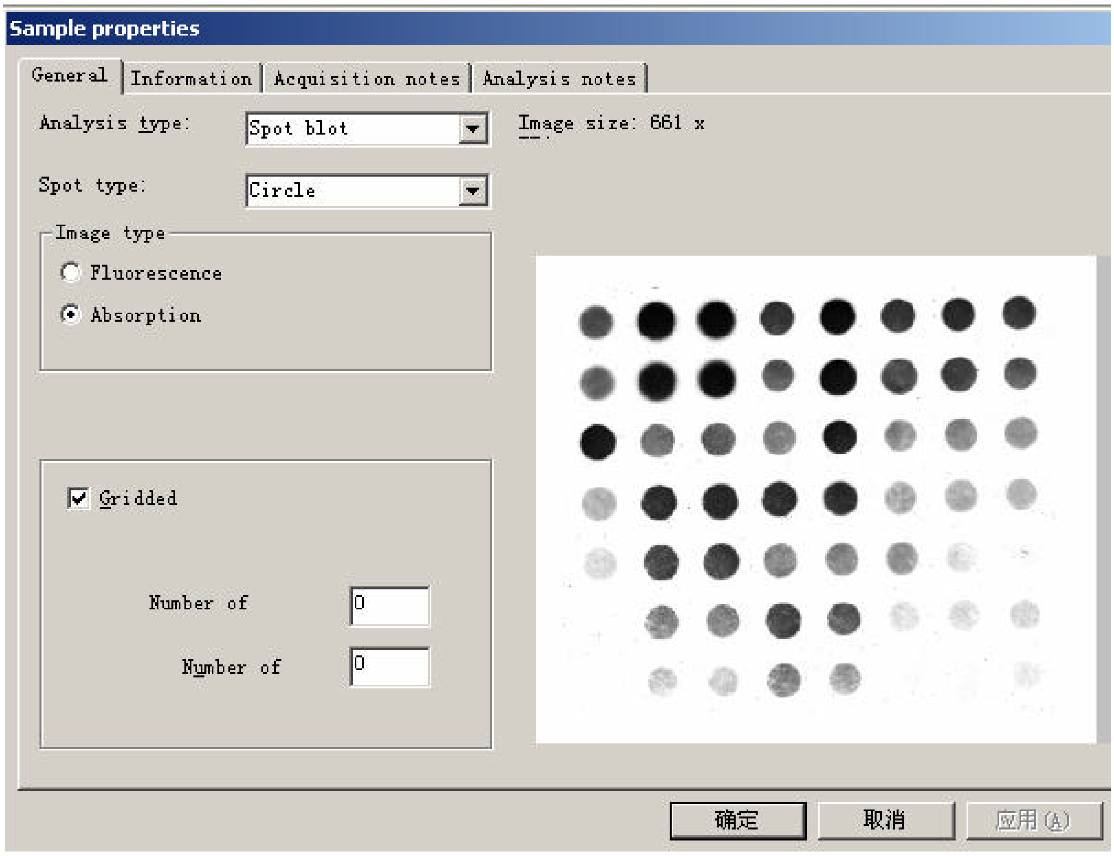
报告打印的程序与凝胶成像的成像的步骤相同。

斑点杂交分析

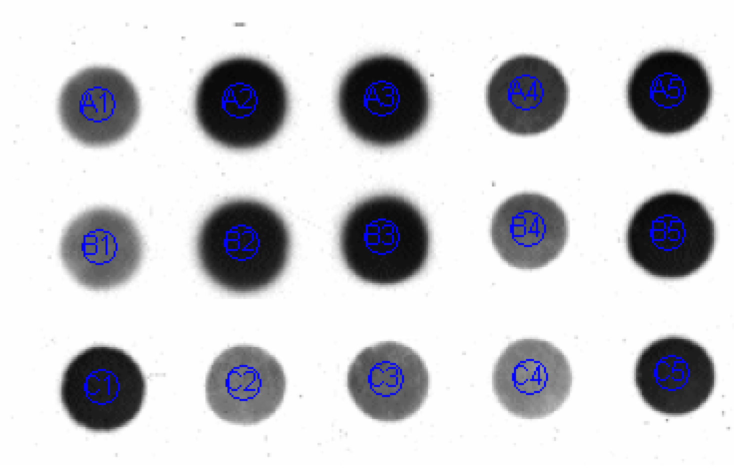
本章节主要介绍如何使用GeneTools 斑点杂交的图像进行分析。

打开图像

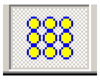
打开一斑点杂交的图像，进行分析。



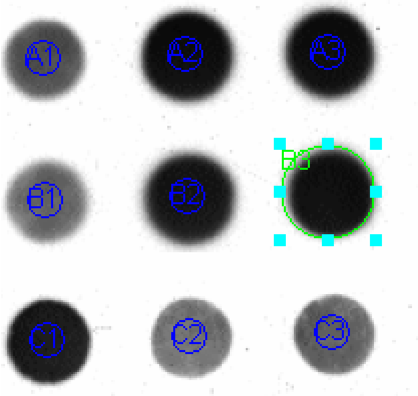
“Analysis type” 选择“Spot blot”，Spot type选择 “Circle”，Image type 选择“Absorption”，下面保持默认状态，点击“OK”。

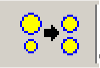


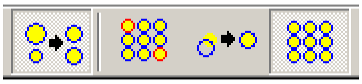
如果边框的范围小于或者大于样本的面积，可以通过相应的参数调节

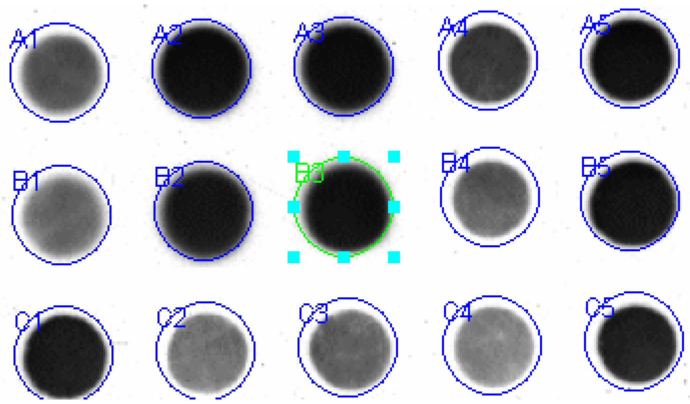


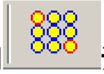
对任意样本的边框进行调节

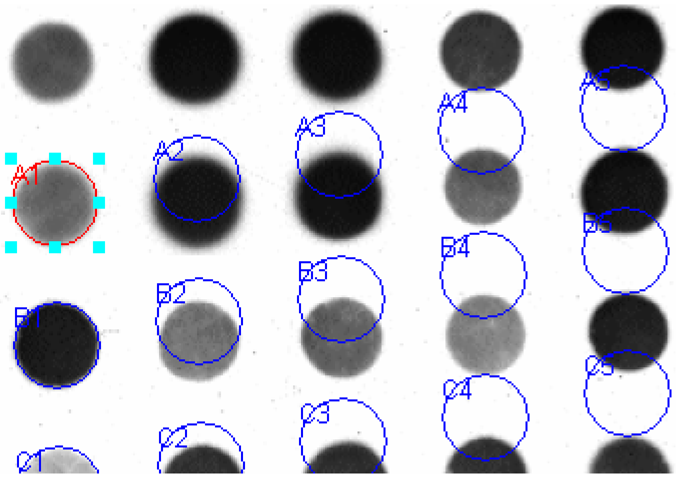


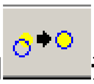
如果配合一起使用，则同时对所有样本的边框一起调节

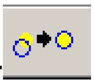


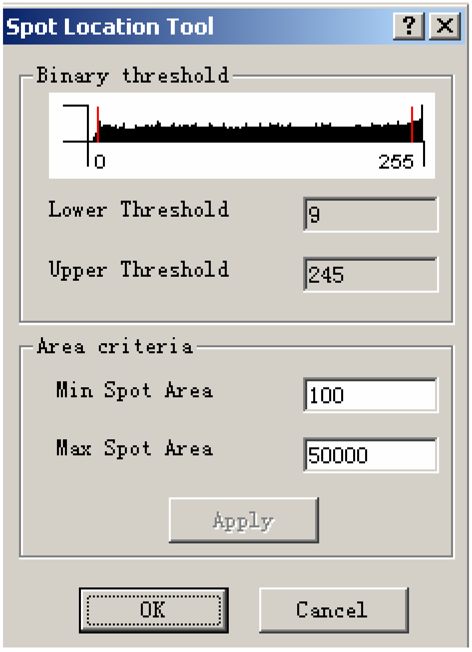


使用调节边框的位置

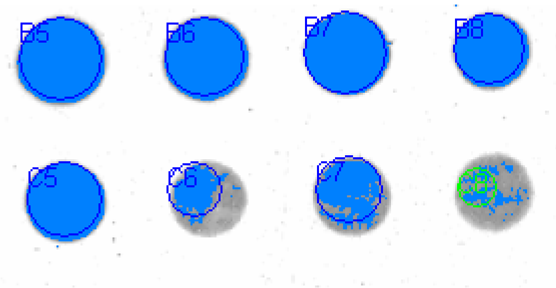


使用调节分析的范围

点击，弹出



调节两垂直红线的距离，可以调整样本边框的大小，只选择符合条件的图像



背景校正、定量分析、标准曲线的分析和手工定量分析步骤一样，详情参考手动定量分析。